

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI  
ANNO CCC.  
1903

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XII.

2° SEMESTRE.



ROMA  
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

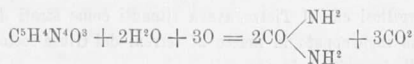
1903

Batteriologia agraria. — *Sul batterio dell'acido urico* (1).  
Nota di C. ULPANI, presentata dal Socio E. PATERNÒ.

Dai lavori di F. e L. Sestini (2) e di Gerard (3) era stato posto fuori di dubbio che le soluzioni di acido urico in certe condizioni possono subire una fermentazione speciale, ma non avendo isolato il microorganismo che produce questa fermentazione, gli autori non erano rimasti d'accordo sui prodotti terminali di essa.

Essendomi appunto riuscito l'isolamento di questo microorganismo, ne descriverò i caratteri morfologici e culturali.

Premetto, intanto, che, servendosi di questo batterio in cultura pura, il dott. Cingolani, dietro mio invito, ha eseguito in questo laboratorio una lunga serie di determinazioni, che fra breve verranno pubblicate, per stabilire la equazione chimica della fermentazione che questo batterio produce sull'acido urico. L'acido urico viene quantitativamente demolito secondo questa equazione:



Isolamento del batterio dell'acido urico.

Il metodo seguito per isolare questo batterio è stato il seguente: escrementi freschi di pollo sono stati stemperati in acqua in un pallone, e dopo alcuni giorni, quando si è notato un manifesto movimento fermentativo nel pallone, si è fatta una serie successiva di passaggi prima in palloni contenenti il medesimo materiale sterilizzato, e poi in tubicini contenenti una soluzione di acido urico e tracce di sali (fosfato sodico, cloruro sodico e solfato potassico). Ventiquattro ore dopo l'innesco il contenuto dei tubicini incominciava ad intorbidarsi: se in fondo al tubicino vi era un po' d'acido urico indisciolto, questo deposito mano mano si veniva sciogliendo e dopo pochi giorni il liquido non dava più la reazione della murosside, sicché l'acido urico era completamente fermentato.

Facendo ora le piastre in agar si è così potuto isolare un batterio, che, in cultura pura, innestato in una soluzione d'acido urico alla temperatura di 35", lo fermenta completamente in tre o quattro giorni.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto chimico della R. Università di Roma.

(2) Gazz. Chim. Ital. Vol. 20, pag. 133 e vol. 26, pag. 92.

(3) Comptes Rend. Vol. 122, pag. 1019 e vol. 123, pag. 185.

Si noti che la reazione della murosside è così sensibile, da svelare una parte di acido urico su 100000, e che i tubicini non innestati di controllo mantengono sempre la proprietà di dare la reazione della murosside: almeno tubicini sterilizzati nel novembre 1902 danno ancora dopo 10 mesi una reazione evidentissima.

#### Caratteri morfologici.

Il batterio all'osservazione microscopica dimostra una forma tipica di cocco-batterio fornito di capsula ben evidente. Dopo successivi passaggi ha tendenza ad assumere un aspetto coccico piccolo. Si osservano però, specie nei mezzi liquidi di cultura (escluso il liquido dell'acido urico in cui le forme sono prevalentemente piccole e rotonde), forme filamentose corte e grosse che indubbiamente risultano dall'unione di forme bacillari grosse e tozze che poi si staccano e rimangono libere. Oltre a queste si osservano anche forme filamentose sottili le quali farebbero pensare a prima vista a un inquinamento, ma il loro numero è troppo scarso e l'attenta osservazione fa vedere che anche esse tendono a suddividersi in forme bacillari, benchè non regolarmente, dando luogo a forme che non possono interpretarsi che come involutive. Infatti si osservano anche forme bacillari sottili leggermente elevate, che indubbiamente sono involutive.

Mano mano che la cultura invecchia, le forme cocco-batteriche si fanno sempre più piccole. Questo fenomeno è ancora più manifesto nelle culture in acido urico, in cui il microorganismo dopo aver assunto sempre più l'aspetto coccico piccolo, manifesta una netta bacteriolisi (piccolissimi granellini rotondi ben colorati).

Il microorganismo è mobile e resiste alla decolorazione col metodo del Gram: si colora bene con la fucsina (liquido di Zielh) e con il violetto di ginezianna assumendo una colorazione uniforme: bastano 20"-40" per colorirlo a caldo.

#### Caratteri culturali.

*Piastre in agar.* — Su agar all'acido urico in cultura a piatto dà dopo tre giorni colonie rotonde del diametro di 1-1 1/2 mm. di colorito giallo chiaro quasi bianco, sporgenti sulla superficie dell'agar, senza alcun alone periferico. Dopo 10 giorni le colonie misurano 1 1/2 2 1/2 mm. di diametro e si presentano ancor più rilevate con la parte centrale nettamente a punta e con un leggiero alone periferico più chiaro e trasparente. Osservate al microscopio le colonie si presentano con contorno nettissimo, col bordo più chiaro e trasparente, e con la parte centrale più scura e spessa, a massa omogenea, granulosa giallastra. Non si ha sviluppo, o limitatissimo, nell'interno dell'agar.

*Strisciamento in agar.* — Nell'agar all'acido urico solidificato a becco di flauto presenta, specie ai margini della linea di strisciamento uno sviluppo a colonie piccole, rotonde, staccate, sporgenti umide. Dopo 2 o 3 giorni le colonie confluiscono assumendo l'aspetto di una patina sottile, umida bianco-giallognola omogenea. Nell'agar comune si sviluppa egualmente, solo lo sviluppo è più lento.

*Colonie in gelatina.* — In gelatina a piatto si sviluppa come nell'agar, ma le colonie sono di molto più piccole, quasi puntiformi. Non fluidifica la gelatina.

*Infissione in gelatina.* — Sviluppo caratteristico a chiodo: in superficie si ha disco rotondo che nella parte mediana è sporgente, gialliccio, spesso, opaco e alla periferia pianeggiante trasparente, bianco-azzurrognolo, con contorno netto; il tramite d'infissione è appena visibile, a forma di piccolo nastri terminante in punta.

*Culture liquide.* — Nel brodo comune, come nel brodo all'acido urico, si sviluppa bene intorbidandolo uniformemente dopo un giorno, e facendo alla superficie una leggiera pellicola mobile, sottilissima, azzurrognola che non cade al fondo, con un piccolo deposito granuloso e polverulento e qualche raro fiocchetto sospeso.

Si sviluppa più lentamente e con minore intensità nel peptone puro e nel peptone all'acido urico, ma senza formare pellicola alla superficie e deposito al fondo.

Tubicini contenenti una soluzione di acido urico in acqua distillata (soluzione satura a freddo) con aggiunta di una piccolissima quantità di sali innestati, presentano i seguenti fenomeni: la soluzione limpida prima dell'innesto già dopo un giorno si fa opalescente e dopo tre giorni si presenta bianchiccia; al quarto giorno il contenuto dei tubicini non dà più il minimo accenno della reazione della muresside e al 7° 8° giorno, al massimo al 10° i passaggi fatti da queste culture riescono sterili. Non si sviluppa nè in soluzioni di carbonato di guanidina, nè in quelle di caffeina, di allosano, di acido parabanico, di glucosio, di saccarosio, di amido ecc. Sembra invece che si sviluppi in una soluzione di asparagina, facendo assumere al liquido dopo 7-8 giorni un colorito gialliccio, che aumenta sempre più d'intensità sino a divenire giallo verdastro dopo 20-25 giorni.

#### Resistenza alla temperatura.

Lo sviluppo avviene bene ad una temperatura di 29°-42°, optimum 39°: le culture mantenute per un ora alla temperatura di 45° si sviluppano ancora; a 48° lo sviluppo è scarsissimo; tenute per un'ora a 50 non si sviluppano più.

---

L'isolamento del batterio dell'acido urico porta un contributo alle nostre conoscenze sul ciclo biologico dell'azoto. Le sostanze proteiche elaborate dai vegetali o attraversano l'organismo animale come alimento, o subiscono la putrefazione batterica: in questo ultimo caso l'azoto delle proteine vegetali attraverso una lunga serie di azioni microbiche, i cui agenti sono quasi affatto ignoti, viene ridotto a carbonato d'ammonio e poi nitrificato; giunto allo stato di nitrato l'azoto o per opera dei denitrificanti ritorna allo stato elementare nell'atmosfera, o assorbito dalle piante torna ad integrarsi per opera della cellula vegetale nella molecola proteica. Invece l'azoto proteico ingerito dagli animali viene escreto sotto forma di combinazioni azotate organiche, e si sa dai lavori di Winogradski e Omelianski che tali combinazioni per essere nitrificate hanno bisogno di essere mineralizzate. Per l'urea si ha il *bacterium ureae*, che la fermenta idrolizzandola a carbonato d'ammonio. Ma l'urea non è il solo prodotto azotato del metabolismo animale. Per quanto le nostre conoscenze sulla chimica comparata della secrezione renale siano molto incerte, pure sembra assodato che in tutti gli invertebrati l'azoto non è eliminato sotto forma di urea: negli stessi vertebrati solo i mammiferi, gli anfibi e i pesci eliminano urea; mentre i rettili e gli uccelli emettono acido urico. Anche nelle forme più basse del regno animale si riscontra l'acido urico come prodotto di escrezione: fino nel protoplasma dei protozoi si troverebbero, secondo Entz, formazioni cristalline escrementizie di urato di sodio; negli echinodermi poi Griffiths (1) ha posto fuor di dubbio la eliminazione dell'acido urico. Nei celenterati (2) invece e nei vermi (3) sembra che l'azoto proteico venga escreto sotto forma di guanina. I molluschi invece eliminano acido urico; solo nei cefalopodi (4) compare l'ipocantina come prodotto d'escrezione dell'azoto. Nei crostacei (5) prevale la guanina; negli atropodi (6) si riscontra tanto l'acido urico che la guanina, così negli insetti e nei miriapodi si ritrova acido urico, mentre ad es. gli scorpioni eliminano guanina.

L'acido urico è adunque uno dei più importanti prodotti del metabolismo animale: ora il batterio dell'acido urico inizia la mineralizzazione di questo complesso chimicamente così stabile demolendolo in anidride carbonica ed urea, rendendo così possibile l'azione associata del *bacterium ureae* che poi lo conduce alla sua mineralizzazione completa.

Infatti, io ho dimostrato che il *bacterium ureae* non attacca menomamente l'acido urico, mentre una soluzione di acido urico sterilizzata e

(1) Phys. of the Invertebrata, 1892, pag. 254.

(2) Caruf, *System der tierischem Morphologie*, 1843, pag. 148.

(3) Schaeppi, *Senaische Zeitschr.* 1894, pag. 248-293.

(4) Von Fürth, *Zeitschr. f. phys. Chemie*, 1900, pag. 353.

(5) Gornp-Besanes e Will, *Ann. Lieb.*, 69, pag. 120.

(6) Marchal, *Mém. Soc. zool. de France*, 3, pag. 55.

innestata contemporaneamente con culture pure del batterio dell'acido urico e del *bacterium ureae*, viene rapidamente e quantitativamente trasformato in carbonato d'ammonio; non solo: tubicini contenenti una soluzione d'acido urico, dopo essere stati completamente fermentati dal batterio dell'acido urico, presentano reazione neutra alla carta di tornasole: se a questo punto s'innestano col *bacterium ureae*, dopo poche ore la reazione diventa alcalina e si può facilmente dimostrare la formazione del carbonato d'ammonio.

Attualmente ho in corso esperienze sulla fermentazione della guanina e della ipoxantina.

V. C.